

京都府立大学学術報告（理学・生活科学）第25号 B系列 p. 19～24（1974年10月）

繊維および繊維製品に対するカビの影響について（第7報）

佐 藤 睦 子

The influences for fibers and their products by molds (The 7th report)

MUTSUKO SATO

染料に対するカビの影響を明らかにする目的で、直接染料 Orange 49 による染色綿布、酸性染料 Red 6 による染色絹布に AN, PC のカビをそれぞれ接種し、さらにまたこれらの染布の他に直接染料 Green 34, 酸性染料 Green 9 を用いて染色した綿、絹布とこれらの4つの染料溶液に対照として塩基性染料 Blue 9 を選んでこれらに AN, PC, FM の抽出酵素液を作用せしめ、前者については培養布の抽出染料溶液の比色、後者については作用溶液の比色を行った。その結果本実験条件下でカビの酵素的作用の一つである還元による染料の脱色が明らかとなり、又各カビの作用の特性について若干の知見を得た。

その1 カビによる染布の退色について

Decoloring phenomena of dyed fabrics by molds

I 結 言

カビによる染布の変退色の原因は、カビの生産色素による汚染の他に、その酵素的作用の一つである還元による脱色が考えられるので、本実験では綿、絹染布にカビを発生させ、その影響を抽出染料溶液の比色結果から検討した。

II 実験方法と結果

1) 試 布

絹織物（白羽二重、市販品）

糸の見掛番手 { 経 (76D/24FIL) × 2
緯 (84D/58FIL) × 1

密 度 { 経 48/cm
緯 38/cm

布の大きさ 5 cm × 5 cm

綿織物（白ブロード、市販品）

糸の見掛番手 { 経 14T_t (40N_eC 単糸)
緯 15T_t

密 度 { 経 58/cm
緯 29/cm

布の大きさ 5 cm × 5 cm

2) 使用したカビ

Aspergillus niger ATCC 6275 (AN), *Penicillium*

citrinum ATCC 9849 (PC) を、ブドウ糖-酵母エキス、寒天培地で斜面培養して用いた。

3) 試布の染色と滅菌

前報¹⁾²⁾と同方法で調製した各試布を綿布はジアリール尿素誘導体の直接アゾ染料 Sumilight Orange G conc. (DO), 絹布はモノアゾ系酸性染料 Suminol Fast Red B conc. (AR) を用いて常法により染色し、これらを間欠滅菌して試料とした。

4) 孢子懸濁液の調製、カビの接種および培養

すべて前報¹⁾²⁾に準じて処理した。なお、確認培地試験は各染色布についてハローテストを行った。

5) 試布の検鏡

培養を終えた各試布について検鏡した結果、接種した2種のカビはいずれも生育が認められた。AN, PC の発生状態は不染布、染色布いずれについても前報¹⁾²⁾における場合と同傾向にあった。即ち、発生量はANよりも僅かながらPCが、また綿布上よりもかなり絹布上において著しく、それぞれのカビの特長をあらわしていた。カビ色素による汚染状態は、先ず不染布では前報³⁾における場合と同現象を呈したが、染色布についてはPCよりもAN汚染が著しかった。併しいずれも脱色現象は認められなかった。

6) カビ発生量の測定

表1-1 カビ発生量

カビ	試布	カビ発生量 g
AN	綿	DO 0.0044
		— 0.0040
	絹	AR 0.0070
		— 0.0068
PC	綿	DO 0.0043
		— 0.0037
	絹	AR 0.0077
		— 0.0074

カビ発生布をそれぞれ標準状態で秤量した後、カビ別、繊維別、染料別にラウンダオメーターを用いて0.9%食塩水（浴比1:100, 20℃×10分×1回）、純水（浴比1:300, 20℃×5分×3回）にて洗浄したものを、検鏡によりカビの残査がないことを確かめた上で、標準状態で乾燥後、再び秤量し、それ等前後の重量差からカビ発生量を求めた。

無接種対照試布の重量減少率はDO綿布0.36%, 不染綿布0.20%, AR絹布0.85%, 不染絹布0.76%であり、表1-1における発生量はこれを補正したものである。

7) 試布の染料抽出

各洗浄布の約2分の一面積を標準状態で秤量した。

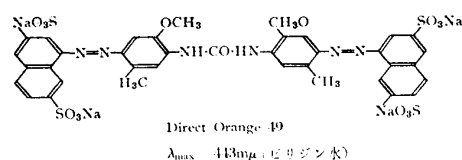
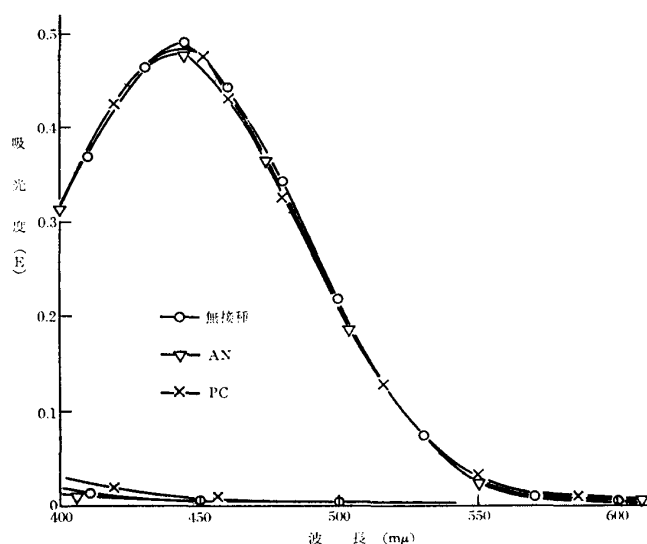


図1-1 綿布抽出溶液吸光曲線

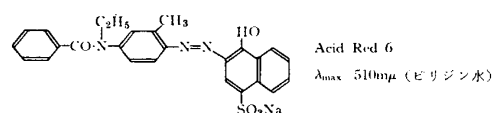
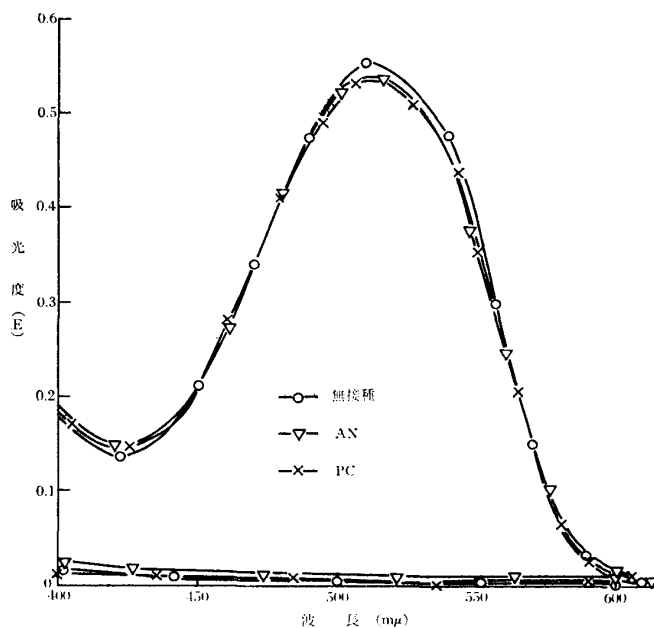


図1-2 絹布抽出溶液吸光曲線

その際、発生布についてはカビ発生部分を主に把握出来るようにサンプリングした。25%ピリジン溶液にて染料を完全に抽出した。その確認は試布の白度と最終抽出液の比色で以て行った。なお抽出条件を次に示す。

綿布 ① 25%ピ液 30cc,

15分 Boil (80℃~100℃) 30分放冷×2回

表1-2 抽出溶液吸光度

カビ	試布	pH	吸光度 E	染布吸光度変化率 %	染料濃度% (染着量%)
AN	綿	DO 8.41	0.4828	-1.43	0.00118
		— 8.57	0.0066		
	絹	AR 8.75	0.5406	-2.57	0.00106
		— 8.57	0.0088		
PC	綿	DO 8.51	0.4841	-2.53	0.00117
		— 8.52	0.0132		
	絹	AR 8.60	0.5391	-2.47	0.00106
		— 8.68	0.0068		
無接種	綿	DO 8.50	0.4895		0.0012 (0.763)
		— 8.52	0.0064		
	絹	AR 8.55	0.5528		0.0011 (1.26)
		— 8.73	0.0070		

②	//	20cc	
		//	× 1 回
③	//	10cc	
		//	

絹布 ①～② 綿布と同一, ③のみ 常温浸漬
30分×1回

8) 抽出液の比色

各抽出溶液をそれぞれ試布重量に応じて規定の容積にし, この溶液の一部をとり回析格子形光電比色計を用いて吸光度を測定した. その吸光曲線を図1-1, 1-2に示す. 更に吸光度測定値から吸光度変化率と検量線によって染料濃度を求めた. いずれも無接種対照試布, 接種不染対照試布の吸光度を補正したものであり, その結果を表1-2に示す. なお各抽出液の pH を測定した. なおそれら附近の各 pH は分光吸収に影響しなかった.

III 考 察

1) 供試菌については, JIS 規格「カビ抵抗性試験方法」*に指定されたもののうち, とくに活性度の強いと言われている AN, PC を選んだ.

2) 表1-1 より, カビ発生量は AN では 0.004～0.007 g, PC では 0.004～0.008 g の範囲にあり, 菌種による大差は認められないが, 対繊維について比較するといずれも綿よりも絹布上に AN では1.6倍, PC では1.9倍の発生量であった. このことはさき¹⁾²⁾の結果を裏付ける. また従来より, 合成染料のうちハロゲン, -NO₂, -SO₃Na, -SO₂NH₂, などの基を多くもつものは殺菌性があり糸状菌繁殖を妨げる⁴⁾とか, 染

* JIS Z 2911-1960 (1963 確認)

料の化学構造と殺菌性についての報告⁵⁾があり, Malachite Green, Crystal Violet など確かめたが, 本実験における AR やベンジン系ではないが -SO₃Na の多い DO でさえもそれ等と異り, 試布上でもハローテストでもカビ繁殖に対して影響を与えなかった.

3) 発生布の汚染状況については不染布ではさきの結果を裏付けるが, 2種の染色布いずれにおいても AN 汚染の方が PC よりも著しかったのは, 単に生産色素の色相の違いによるものであり, 発生量とは無関係である.

4) カビ発生量測定の目的で行ったこの種の洗浄では肉眼による官能的検査で殆んど汚染は認められず, 除去効果を示した.

5) 図1-1, 1-2 から, 各抽出液の吸光度は各染布間, 各不染布間いずれもカビ色素による吸光曲線の特長的な波形のずれは全く認められず, 染布間では殆んど差はない. 綿布不染布では PC が黄色系を増している. 即ち, λ_{\max} において DO 綿布, AR 絹布に対するカビ生産分泌物による吸光度変化率は AN が DO 綿布に対し1.4%の低下率である以外はいずれも2.5%程度である. 従って染料濃度の減少も僅少である. 併し, カビによる脱色現象の原因が分泌物の一つである有機酸などによるものの他に, 酵素的作用のうちの還元作用によるものとするならば, 本実験は嫌気的条件下ではないために酸化により復色したのであろうとも推測出来るので, この場合の僅少差結果を実験誤差として取扱えない. 検鏡下でも脱色が認められなかったこともうなづける.

また, 僅少差からカビには染布の染着機構を変化させて染料離脱をうながすような酵素的作用は, 本実験結果からは無いと言ひ得る.

その2 カビ抽出酵素液による染料の退色について

Decoloring phenomena of dyes by the enzyme solutions from cultured molds.

I 結 言

その1にひきつづきさらにカビの還元作用による脱色現象を明らかにする目的で, 本実験ではカビの抽出酵素液を用いて, それらが綿および絹染布と染料溶液に与える影響を作用溶液の比色結果から検討した.

II 実験方法と結果

1) 基 質 (試布と染料溶液)

試布はその1における DO 綿布, AR 絹布に, さ

らに銅錯塩直接アゾ染料 Sirius Supra Green BTL (DG), 酸性トリフェニルメタン染料 Acid Brilliant Milling Green B (AG) を用い, 常法により染色した綿および絹染布を面積 1 cm² にカットしたものであり, また染料溶液は DO, AR, DG, AG に塩基性チアジン染料 Methylene Blue FZ (BB) を加えて各1%水溶液約 0.01 ml を用いた.

2) 抽出酵素液の調製

使用カビは AN, PC の他にこれらと同一条件で培養された *Fusarium Moniliforme* USDA 1004.1 (FM)

表2-1 染料溶液吸光度

カビ	作用 時間	吸光度(E)とその変化率(%)									
		DO		DG		AR		AG		BB	
		E	%	E	%	E	%	E	%	E	%
AN	3min.	0.9208		0.1612		0.3925		0.7235		1.276	
	1 hr.	0.8539	-6.56	0.1549	-3.91	0.3665	-6.62	0.6904	-4.57	1.237	-3.10
	2 // (pH)	0.8539 (6.20)	-7.13	0.1550 (6.23)	-3.84	0.3665 (6.20)	-6.62	0.6840 (6.20)	-5.45	1.237 (6.19)	-4.01
PC	3min.	0.8539		0.1549		0.5528		0.4881		0.4342	
	1 hr.	0.7696	-9.87	0.1457	-5.64	0.5086	-7.79	0.4547	-7.79	0.3979	-8.12
	2 // (pH)	0.7696 (5.90)	-9.97	0.1456 (5.95)	-5.80	0.5086 (5.95)	-8.10	0.4547 (5.95)	-7.97	0.4000 (5.90)	-8.12
FM	3min.	0.8097		0.1308		0.4437		0.1643		0.2518	
	1 hr.	0.6990	-13.05	0.1192	-8.86	0.4202	-5.45	0.1487	-9.49	0.2161	-16.72
	2 // (pH)	0.6882 (5.78)	-15.00	0.1124 (5.90)	-14.06	0.4112 (5.90)	-8.20	0.1486 (5.86)	-10.63	0.2163 (5.85)	-16.64

を用いた。それぞれ濾紙培養を行い、その抽出酵素液を供試酵素液として用いた。即ち、濾紙約 12 g を間欠滅菌したのち、ブドウ糖酵母エキスなどの滅菌溶液 10 ml を均一に散布し、各カビ接種培養 (32°C×5 日) したものを 0.9%食塩水 200 ml で少量の海砂と共に磨砕抽出し、その濾液を供試酵素液とした。なお、各染色布についてハローテストを行った。

3) 酵素処理

各基質染布と基質染料溶液を試験管に入れ、嫌気的条件下にするため抽出酵素液をフルに満たした上で、さらに気密性をもたせ、32°C×1～2 時間作用させた。対照試験は抽出酵素液の他に染布に純水を作用させて同一処理した。

4) 作用溶液の比色

染料については作用直後と、1 時間、2 時間後、染

布については 2 時間後の比色を行った。その結果を表 2-1 と表 2-2 に示す。これらにおける値はいずれも表 2-3 の抽出酵素液吸光度を補正したものである。

また、各作用溶液の pH を測定した。なお DG, AG, BB についてそれら附近の各 pH は分光吸収に影響しなかった。なお、本実験で求めた DG の吸光曲線を図 2-1 に示す。

表2-2 染布浸出溶液吸光度

カビ	作用 時間 hr.	吸 光 度 E			
		DO	DG	AR	AG
AN	2 (pH)	0.0016 (6.20)	0.0009 (6.23)	0.0191 (6.20)	0.0113 (6.12)
PC	//	0.0085 (5.95)	0.0018 (5.94)	0.0231 (5.90)	0.0128 (5.93)
FM	//	0.0016 (5.86)	0.0025 (5.86)	0.0171 (5.80)	0.0086 (5.78)
純水	//	0.0223 (6.30)	0.0043 (6.00)	0.0580 (6.25)	0.0232 (6.25)

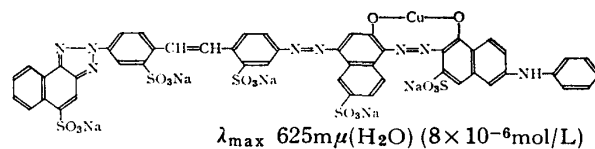
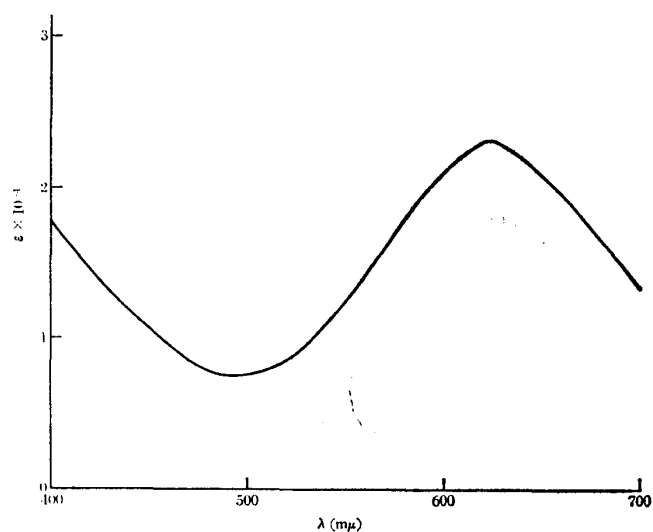


図2-1 Direct Green 34の吸光曲線

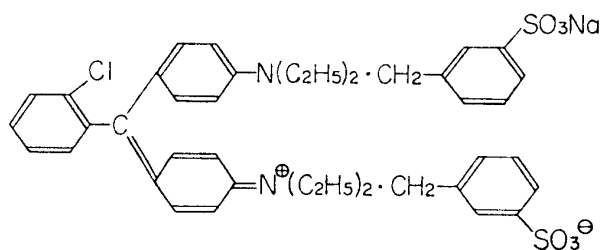
表2-3 抽出酵素液吸光度

カビ (pH)	作用 時間	吸光度 (E) とその変化率 (%)									
		443 mμ		625 mμ		510 mμ		635.4 mμ		668 mμ	
		E	%	E	%	E	%	E	%	E	%
AN ↓	(6.40) 3min.	0.0857		0.0339		0.0315		0.0110		0.0110	
	1 hr.	0.0851	-0.70	0.0339	0	0.0315	0	0.0110	0	0.0110	0
	(6.70) 2 "	0.0846	-0.13	0.0339	0	0.0315	0	0.0110	0	0.0111	+0.91
PC ↓	(5.95) 3min.	0.2161		0.0969		0.0935		0.0443		0.0418	
	1 hr.	0.2161	0	0.0969	-0.30	0.0933	-0.21	0.0448	+1.13	0.0417	-0.24
	(6.20) 2 "	0.2163	+0.10	0.0967	-0.20	0.0936	+1.10	0.0448	+1.13	0.0417	-0.24
FM ↓	(5.83) 3min.	0.0975		0.0706		0.0685		0.0372		0.0353	
	1 hr.	0.0969	-0.62	0.0706	0	0.0696	+1.60	0.0372	0	0.0362	+2.55
	(5.87) 2 "	0.0975	0	0.0706	0	0.0691	+0.88	0.0376	+1.08	0.0362	+2.55

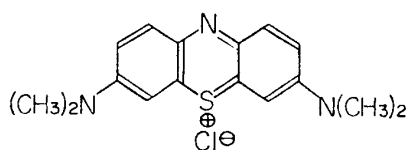
III 考 察

1) 染料に対するカビの脱色作用は *Fusarium* 属において大きく、とくに緑色系に著しいという⁶⁾ことから、FM を用い、染料も DG, AG を追加し、さらに微生物の生物学的性状の検査の一つにメチレン青還元反応があるので、ここでも比較対照染料にメチレン青を用いた。それらの分子構造を次に示す。また、ハローテスト結果からみて、ここでも DG, AG, BB はカビ発生のブレーキとはならなかった。トリフェニル

別図



Acid Green 9



Basic Blue 9

メタン系のものは殺菌性があると言⁵⁾われているが AG の場合、Cl があるのに金属塩化物の複塩でないことや、酸性基やアルキル基の導入がその効力を失くしている⁵⁾ というのであろうか。アゾ系の DG も SO₃Na が多いのに効果がない。また、BB は殺菌性があると言われ⁵⁾ ているが本実験条件下で糸状菌に対して効果がなかったのは濃度的な問題もあるかもしれない。

2) 供試酵素液の酵素濃度については、調製中のカビ発生量や生産酵素量、酵素活性の消長などが影響し、定量も困難なため、これを無視したので、本実験値はすべて絶対値になり得ないが、実験条件下における比較値にはなり得るものである。

3) これらの作用は各カビの至適 pH を考慮した上で、それぞれ pH を近似値に調整したため、有機酸や塩基などの影響は無視出来、酵素的作用が主であるとみて差しつかえない。

4) 表2-1 より、染料溶液の吸光度変化率は3.0~17.0%の減少範囲にあった。総体的に PC の作用は AN よりやや強いが FM に比較するとかなり劣り、即ち FM では AR を除けば AN の2~2.5倍、PC の1.5倍の低下率を示した。このことは報告⁶⁾ と同傾向にあったが、それが緑色系のみに対する特長としてはみられなかった。一般的傾向として DO はいずれのカビにも作用を受け易いようである。また、BB の値は AN に対しては最小なのに FM には最大であるというような他の染料に比較し特長的であった。1時間、

2時間後の低下率比較は、勿論各カビの反応速度の尺度にはならず、また力価も表わせないが、併し実験結果から各カビによる還元酵素の生産分泌量の違い、或いはそれぞれの基質特異性の一端は明らかになったと言えよう。基質特異性は基質である各染料と各酵素両者の特殊な分子構造および空間配置にもとづくものであり、酵素分子の特定位置にぴったりと賦活吸着されるもののみが反応を受けると言われている⁷⁾。此場合、分子量や分子構造の違いに加えてそれぞれ電位的なものも還元の難易に関係しているのであろう。

多くの微生物は酸化剤や還元剤になり得ると言われ⁸⁾ているが、此の場合酵素液中の水の中の水素か或いは染料に対し電子を放出しやすい有機化合物と染料間に還元酵素が触媒的に働いて染料が電子受容体となり、嫌氣的条件下で染料は水素の加わった無色の形に還元されたのであろう。いずれにしても色素分子に水素が移り、DO, AR, DG では構造の1部の Azo-benzene が Hydrazobenzene に変化し、また AG, BB ではリューコ化合物に変化したと言えよう。表2-2によれば、染布の酵素作用溶液吸光度範囲は 0.0009~0.0231であるが、純水処理では 0.0043~0.058の吸光度範囲にあり、DG の特殊を除けばすべて大きい値である。酵素液も純水と同じく pH は 6 付近にあり、おそらく物理的に純水と同程度の染料脱離を示したであろうが、得られたこの低い吸光度は酵素処理残布の染料濃度を検討しなくても還元作用の推論を充分裏付ける。

5) 表1-2 より、綿布に対し DO は0.763%, 絹布に対し AR は1.26%の染着量を示している。これらはいずれも対繊維重量で2%用いて染色したものであることから、AR の色素陰イオンとフィブリン分子間のイオン結合の容易さが DO とセルロース間の

水素結合性よりも大きいと言えるが、純水に対する堅牢度は低く、本実験条件下のような緩慢な作用でさえも染料離脱の大きいことを示し、これは簡単な構造の酸性染料で均染性に富むものは、その親水性基のため耐洗濯性に劣るという場合であろう。また DG の耐水性は分子間の銅錯塩構造によるのであろう。

6) 本実験で或種のカビの還元酵素が或種の染料を脱色するという結果を得たが、そのこと自身は直接的には何等、実用的な意味をもたないが、被服整理上、カビによる色素汚染現象と共に、考慮の余地はあろう。

IV 総 括

カビの染料に対する還元作用は、直接染料 Orange 49, 酸性染料 Red 6 による染色綿、絹布の AN, PC 培養布抽出染料溶液の比色では明らかに出来なかったが、直接染料 Green 34, 酸性染料 Green 9, 塩基性染料 Blue 9 をも用いた染料溶液に、FM をも用い、それらの抽出酵素液を嫌氣的条件下で作用させた場合、退色現象は明らかとなり、また、各カビの作用の特性について若干の知見を得た。

(1974年7月29日受理)

文 献

- 1) 佐藤睦子 京都府立大学学術報告 No. 17 (1966).
- 2) // // No. 18 (1967).
- 3) // // " "
- 4) 宮坂和雄 被服整曜学 p. 223 (1967).
- 5) 堀口 博 合成染料 p. 50 (1969).
- 6) 古田幸子 第25回日本家政学会研究報告
- 7) 佐竹一夫 一般生物学 p. 229 (1967).
- 8) 桑島謙夫訳 一般微生物学 p. 152 (1961).